

Concepto Actual de la Prueba Tuberculínica*

KATHERINE H. K. HSU, ANITA T. CARREON,
FONGEE JEU y DANIEL E. JENKINS

Se hace una recapitulación de la historia de la prueba tuberculínica, y se discuten, a la luz de estudios recientes, sus antígenos, técnicas de inoculación, reacciones cruzadas y otros aspectos biológicos y epidemiológicos de primordial importancia en la prevención de la tuberculosis.

La prueba tuberculínica es el medio más eficaz de descubrir casos de tuberculosis y, por lo tanto, esencial para llegar a erradicar esta enfermedad. Es un hecho clínico generalmente admitido que la reacción tuberculínica positiva indica la posibilidad de tuberculosis, en tanto que una reacción negativa indica, con pocas excepciones, que la persona no tiene tuberculosis. Desde la adopción de la quimioprofilaxis con isoniácida, la prueba de la tuberculina ha llegado a ser indispensable para prevenir la tuberculosis, por poner ésta en evidencia en su estado incipiente, fase en que el tratamiento con isoniácida puede evitar la tuberculosis declarada.

Hasta hace poco, toda reacción tuberculínica cutánea se atribuía a infección por el *Mycobacterium tuberculosis*, pero este supuesto se ha puesto en duda en fecha reciente a raíz del creciente conocimiento de otras infecciones micobacterianas que causan sensibilidad tuberculínica cruzada en el hombre. Esta reacción ha planteado un nuevo problema de interpretación de la prueba tuberculínica. El fin del presente artículo es poner al día sobre la interpretación de la prueba tuberculínica, basándose en estudios hechos en la zona de la ciudad de Houston, así como en obras de la literatura médica reciente. Las

reacciones a la prueba del parche y a las pruebas de Heaf y de las púas ("Tine test") serán analizadas para determinar si son factibles y dignas de confianza.

Materiales y métodos

Los antígenos tuberculínicos

La primera tuberculina (OT) fue preparada por Roberto Koch mediante esterilización por el calor, de cultivos de bacilos tuberculosos, filtrado de los bacilos muertos y reducción por evaporación del material filtrado, a una décima parte de su volumen original. Es un preparado rudimentario, que contiene muchas sustancias capaces de producir reacciones no específicas, y su principal defecto es que su contenido real del principio activo no está estandarizado y la potencia de la preparación varía de un lote a otro (1).

El PPD (derivado proteínico purificado) es el principio proteínico activo contenido en el material filtrado, de cultivos de bacilos tuberculosos en medio sintético, esterilizados al autoclave, de donde es extraído por precipitación con ácido tricloroacético o con

* Este estudio fue llevado a cabo con la ayuda de dos subvenciones, una (E-3373) de los Institutos Nacionales de Higiene, y la otra (dedicada a investigación) de la Asociación Antituberculosa del Condado de Houston-Harris, Texas, Estados Unidos. Publicado en inglés en *Diseases of the Chest*, 46 (6):648-664, (dbre.) 1964, bajo el título "Today's Concept of the Tuberculin Test."

Del Departamento de Pediatría y Medicina, Facultad de Medicina de la Universidad Baylor; y de la División de Tuberculosis, Hospital Jefferson Davis, Houston, Texas, Estados Unidos.

sulfato neutro de amonio. Este último método lo siguió Seibert en la elaboración de un lote muy grande que, en 1952, la Organización Mundial de la Salud adoptó como tuberculina internacional estándar, designada PPD-S (2). El antígeno PPD, preparado con *Mycobacterium tuberculosis* y puesto en el comercio, puede adquirirse en tres grados de potencia, a saber:

Potencia	mg. por dosis*	Unidades tuberculínicas
Primera	0,00002	1 UT
Intermedia	0,0001	5 UT
Segunda	0,005	250 UT

* mg. de proteína por 0,1 ml. de solución.

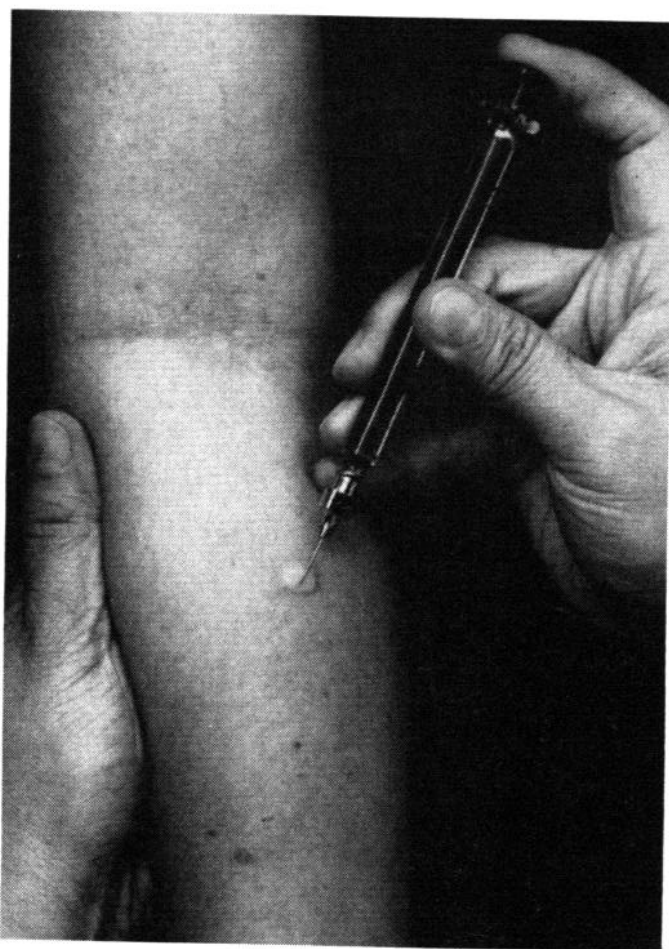
La tuberculina purificada RT 23 es un nuevo lote de PPD elaborada por el Statens Seruminstitut, de Copenhague, a pedido del UNICEF, para uso internacional. Se calcula que la cantidad preparada en este importante lote permitirá satisfacer la demanda mundial de tuberculina purificada para uso humano durante varios años (3, 4).

Al hablar de las reacciones tuberculínicas cruzadas se describirán otros antígenos PPD destinados a usos de investigación.

Métodos de hacer la prueba tuberculínica

La prueba tuberculínica intradérmica o prueba de Mantoux (Fig. 1) es la que hoy está en uso general. Es una prueba cuantitativa, porque se inyecta una cantidad medida de antígeno. Se administra en dosis de 0,0001 (5 UT) por vía intradérmica en 0,1 ml., cada una de las cuales permite descubrir prácticamente cualquier caso de infección tuberculosa, y se emplea por lo común en los exámenes de rutina. De haber fuertes sospechas de tuberculosis, se recomienda una dosis menor, 0,00002 mg. (1 UT) a fin de evitar posibles reacciones locales intensas. El resultado se lee a las 48 a 72 horas de la inyección mediante la inspección de la reacción cutánea bajo una luz favorable y se determinan el grado de la induración y el edema mediante golpecitos y palpación

FIGURA 1 — Prueba tuberculínica intradérmica.



suaves de la zona, con los dedos. Se debe marcar con tinta los márgenes de la induración palpable y medir el diámetro transversal con un error inferior a un milímetro. Se considera positiva toda reacción de 6 mm. o más. Las reacciones grandes son más significativas que las pequeñas.

Otros métodos de hacer la prueba de la tuberculina que se emplean hoy son el de Heaf, el de púas ("tine") y el del parche. Se adaptan mejor que la prueba intradérmica a los exámenes en gran escala, pero no se utilizan para diagnóstico por falta de control de la dosis. Más adelante se comparan las ventajas de los tres.

Fuentes de sensibilidad tuberculínica

Las micobacterias están distribuidas de una manera muy amplia en la naturaleza; muchas especies son saprofiticas y algunas parásitas de animales de sangre caliente. La

más importante de estas últimas es la *M. tuberculosis*, la causa más común de la tuberculosis humana.

Entre el gran número de micobacterias, aparte de la ya mencionada, hay varias especies patógenas para el hombre. No todas ellas han sido ya clasificadas taxonómicamente (2).

Hasta hace muy poco, se admitía que el bacilo de la tuberculosis, *M. tuberculosis*, era la única causa de sensibilidad tuberculínica cutánea. Sin embargo, en fecha reciente se ha demostrado que muchos casos de sensibilidad tuberculínica cutánea, de menor intensidad, observados en personas sanas, tal vez sean causados por infección con bacterias distintas de la *M. tuberculosis*. Este fenómeno se denomina reacción tuberculínica cruzada, para distinguirlo de la reacción tuberculínica específica, o causada por *M. tuberculosis*. Es importante distinguir estas dos formas de sensibilidad tuberculínica cutánea, por su muy distinta significación.

Las reacciones tuberculínicas cruzadas

Experimentos con animales

El problema de la reacción tuberculínica cruzada se ha estudiado ampliamente en cobayos infectados con fines experimentales, por la Sección de Investigaciones sobre Tuberculosis, del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos (5-7). También se han hecho en estos últimos años observaciones de índole experimental planeadas cuidadosamente, en el Statens Seruminstitut, de Copenhague (8-10), con cobayos. Como fruto de dichos estudios se han descubierto hechos importantes sobre la reacción tuberculínica cruzada:

1) Se ha encontrado la causa de la sensibilidad tuberculínica cruzada en varias especies de micobacterias distintas de *M. tuberculosis*. La inyección de tales microorganismos a los cobayos produce hipersensibilidad cutánea a la tuberculina estándar (PPD-S), preparada con *M. tuberculosis*.

2) Hay superposición de propiedades anti-génicas de las diversas especies de micobacterias. Así que los cobayos a los que se ha inyectado un antígeno de cierta especie pueden, a veces, presentar hipersensibilidad cutánea a antígenos elaborados con varias otras especies.

3) El antígeno PPD obtenido del microorganismo homólogo de aquel que produjo la infección, suele provocar una reacción cutánea más intensa que dosis equivalentes de antígenos preparados con micobacterias heterólogas. Por tanto, las pruebas cutáneas diferenciales con diversos antígenos pueden ser útiles para identificar la micobacteria causante de la infección.

Estudios en la población humana

El Servicio de Salud Pública de Estados Unidos ha preparado antígenos PPD con diversas micobacterias aisladas de casos humanos, para fines epidemiológicos. He aquí algunos de estos antígenos:

PPD-Y, del *M. Kansasi* (Grupo Runyon I, antes llamados fotocromógenos)

PPD-BRIDGES, de la cepa Bridges (Grupo Runyon II, o escotocromógenos)

PPD-B, de la cepa Battey (Grupo Runyon III, o no cromógenos)

PPD-S, de *M. tuberculosis*

Estos antígenos PPD se prepararon en forma semejante al PPD-S, o sea por el método Seibert (11, 12). Para las pruebas intradérmicas diferenciales del hombre, se hacen soluciones de cada antígeno que contienen 0,0001 mg. de proteína en 0,1 ml.

Tanto en Estados Unidos como en otros países se han hecho numerosas pruebas cutáneas en humanos. Se ha advertido por ellas que la reacción tuberculínica cruzada suele ser de menor intensidad, y caracterizarse por induración y edema de menos de 10 mm. en respuesta a una dosis de 0,0001 mg. de PPD-S. No es raro que esta dosis produzca una reacción escasa o nula, y entonces tal vez se requiera una dosis mayor (0,002 mg.

ó 0,005 mg.) a fin de que haya reacción cutánea. Las observaciones que siguen han arrojado nueva luz sobre el carácter de la reacción tuberculínica cruzada.

1) La prevalencia de la sensibilidad tuberculínica cutánea de menor intensidad en las observaciones hechas no guarda relación con la prevalencia de tuberculosis, sino con ciertas constantes geográficas, lo cual es un fuerte indicio de que dicha sensibilidad se debe a un factor de ambiente más bien que a una fuente de infección humana (5, 13, 14). Se ha notado mayor prevalencia en las zonas rurales que en las urbanas, en los estados del Sudeste de Estados Unidos que en los del Norte y Oeste (15-17), e igualmente mayor en las zonas tropicales que en las templadas (18, 19).

2) En el Sudeste de Estados Unidos, las personas que acusan reacción tuberculínica cutánea de menor intensidad al PPD-S, suelen tener reacción cutánea más intensa al PPD-B. El cuadro de estas reacciones indica que la propiedad antigénica del agente infectante es más afín a la del microorganismo Battey que a la del *M. tuberculosis*.

3) La sensibilidad tuberculínica cutánea de menor intensidad es poco frecuente en los pacientes afectados de la enfermedad cuyo análisis bacteriológico ha demostrado que ésta ha sido causada por *M. tuberculosis* (5, 20).

Al estudiar el origen de la sensibilidad tuberculínica cutánea en niños de Filadelfia, Mellman (21) halló que no podían atribuirse a la tuberculosis varias reacciones tuberculínicas positivas. Pruebas intradérmicas hechas a la vez con PPD-S y PPD-B revelaron que las reacciones tuberculínicas de menos de 10 mm. solían ir acompañadas de reacciones más intensas al PPD-B, lo cual sugiere que el reactor tiene una infección de tipo Battey con una reacción cruzada al PPD-S. Se han hallado reacciones tuberculínicas cruzadas en niños que no habían estado en contacto con casos de la enfermedad ni habían presentado, tanto al examen radiográfico como al análisis bacteriológico, indicio alguno de tuberculosis.

Griffin y sus colaboradores (22) han comunicado en fecha reciente los datos de sus estudios sobre la sensibilidad de menor intensidad en escolares de Cardiff, Gales. Se compararon los resultados de las pruebas por punción múltiple de Heaf hechas a 2.464 niños; en un brazo se aplicaba tuberculina de mamífero, y en el otro, un antígeno preparado con una de las micobacterias no clasificadas. Entre éstas había una fotocromógena, un grupo de escotocromógenas, una no cromógena aislada localmente, el bacilo de Battey y una no cromógena de crecimiento rápido. Los autores concluyeron que buena parte de la sensibilidad cutánea de menor intensidad (Grado I ó II Heaf) parecía deberse a sensibilización por bacilos del grupo Battey-aviario, y que la sensibilidad tuberculínica cutánea intensa (Grados III ó IV Heaf) era, en general, causada por una infección de *M. tuberculosis*.

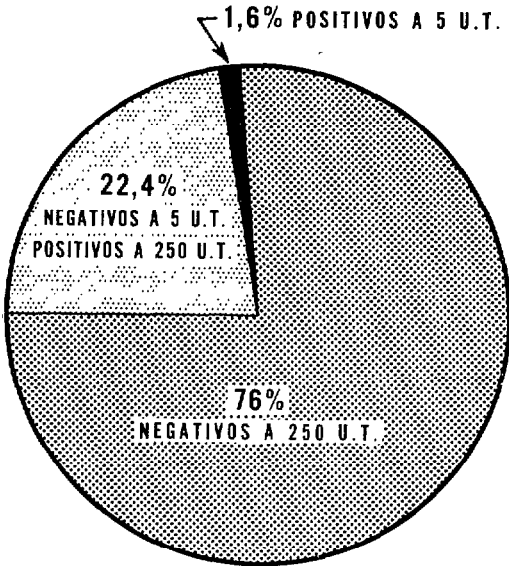
Reacciones tuberculínicas cruzadas en alumnos sanos de escuelas primarias

La sensibilidad tuberculínica cutánea de menor intensidad es común entre los alumnos de escuelas primarias de Houston, Texas. En 1959 se hizo la prueba de la tuberculina, con 5 UT de PPD a 1.080 alumnos de la Escuela Elemental Sunnyside, y sólo el 1,6% de ellos acusaron reacción positiva (6 mm. o más) al ser observados 48 horas después. Se aplicaron entonces 250 UT de PPD a los reactores negativos, y 22,4% de ellos tuvieron reacción positiva a las 48 horas. En la Fig. 2 se muestra la prevalencia de reacciones tuberculínicas de menor intensidad.

Para estudiar el origen de la sensibilidad tuberculínica de menor intensidad se hizo una observación sistemática de la reacción cutánea, por medio de múltiples antígenos PPD, obtenidos de una diversidad de micobacterias, y elaborados por el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, en varias escuelas de primera enseñanza de la zona de Houston que participaron en el experimento. Se volvió a notar la prevalencia de reacciones cutáneas de menor intensidad a la tuberculina estándar (PPD-S). El porcentaje de

FIGURA 2 — Reacciones tuberculínicas positivas a 5 UT y a 250 UT de PPD, en 1.080 alumnos de la escuela elemental Sunnyside.

PRUEBAS DE MANTOUX PPD



reacciones cutáneas positivas (6 mm. y más) al PPD-S y a los demás antígenos micobacterianos PPD, en dos escuelas suburbanas, fue el siguiente:

	PPD-S	PPD-Y	PPD-B
Carver (1961)...	8,2	17,0	39,6
Bethune (1961)...	9,0	19,1	45,1

Se advirtió, además, que, en estas escuelas, la mayoría de las reacciones cutáneas al PPD-S eran de pequeño diámetro. El hecho de que las reacciones tuberculínicas de menor intensidad fuesen acompañadas de reacciones más intensas al PPD-B, parece indicar en el reactor una infección por un microorganismo Battey o un tipo de microorganismos antigénicamente afín a él, y no por *M. tuberculosis* (23, 24).

Un nuevo estudio sobre la causa de la sensibilidad tuberculínica de menor intensidad se realizó en 1962, en dos escuelas de primera enseñanza de Houston, a cada uno de cuyos alumnos se administró intradérmicamente el PPD-Bridges (un escotocromó-

geno) además del PPD-S, el PPD-B y el PPD-Y. En la escuela elemental de Santa Rosa de Lima, fueron objeto de la prueba 547 alumnos, y en la escuela elemental Lantrip lo fueron 718 alumnos. En la Fig. 3 se muestra el porcentaje de reacciones positivas a cada antígeno. Se advierte que la sensibilidad cutánea al antígeno escotocromógeno es tan frecuente como la reacción al antígeno Battey.

La sensibilización al antígeno Battey y a los escotocromógenos comienza a edad temprana. En la Fig. 4 se presenta el porcentaje de sujetos en diferentes grupos de edad con reacciones positivas, conforme a lo observado en las cuatro escuelas primarias antes mencionadas.

La sensibilidad tuberculínica cutánea de menor intensidad en los alumnos de escuelas primarias parece depender más de la infección tipo Battey y escotocromógenos. Un ejemplo de ello puede verse en los diagramas de dispersión 5A, 5B y 5C de la Fig. 5. Las reacciones tuberculínicas débiles de 12 mm. o menos, van unidas a reacciones más intensas al PPD-B y al PPD-Bridges (Figs. 5B y 5C). Esto indica, por consiguiente, que el agente de la infección se relaciona más directamente con los microorganismos Battey y escotocromógenos que con el *M. tuberculosis*. Los fotocromógenos parecen ser una causa menos frecuente de sensibilidad tuberculínica de menor intensidad en dichos niños (Fig. 5A) que los microorganismos Battey o los escotocromógenos.

Observaciones clínicas

Entre las micobacterias no clasificadas que, en un tiempo, se creía eran saprofitas, se han encontrado ciertas cepas perfectamente capaces de infectar al hombre y, en ciertas condiciones, de ser patógenas e invasoras. Los pacientes que se ha comprobado sufren de infección o enfermedad causada por dichas micobacterias, brindan la oportunidad de estudiar las reacciones tuberculínicas cruzadas.

FIGURA 3 — Porcentaje de reacciones positivas al PPD-S, al PPD-Y, al PPD-B y al PPD-Br, en alumnos de la escuela elemental Santa Rosa de Lima, y de la escuela elemental Lantrip.

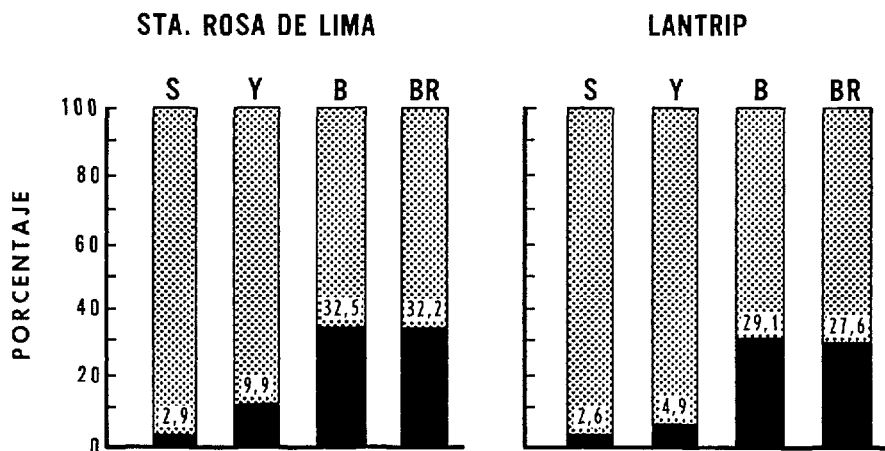
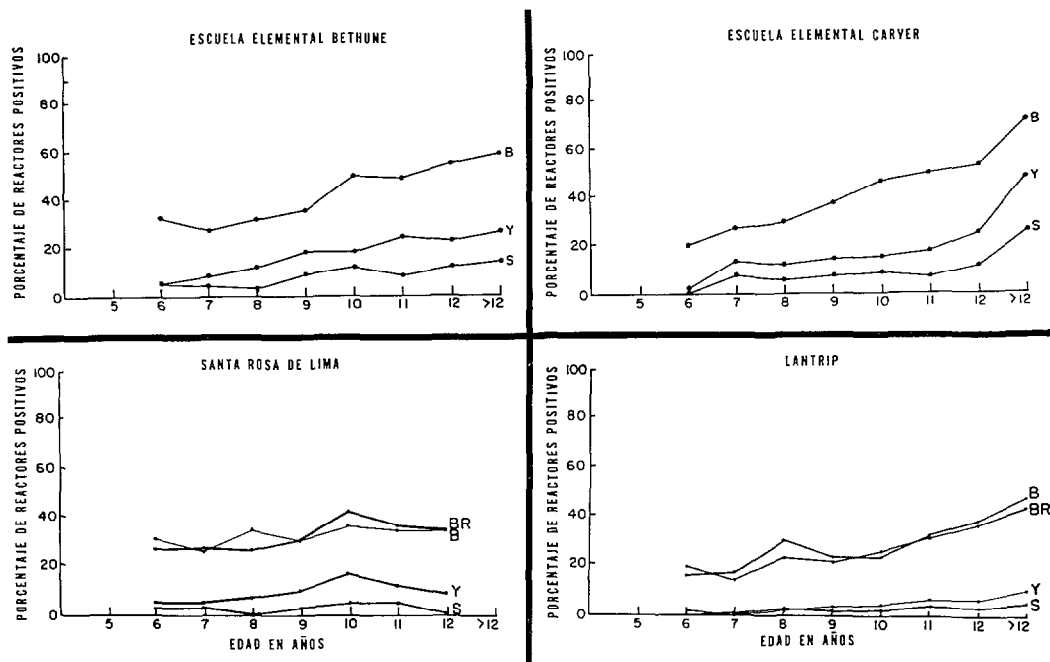


FIGURA 4 — Porcentaje de reacciones positivas a los antígenos micobacterianos según grupo de edad.

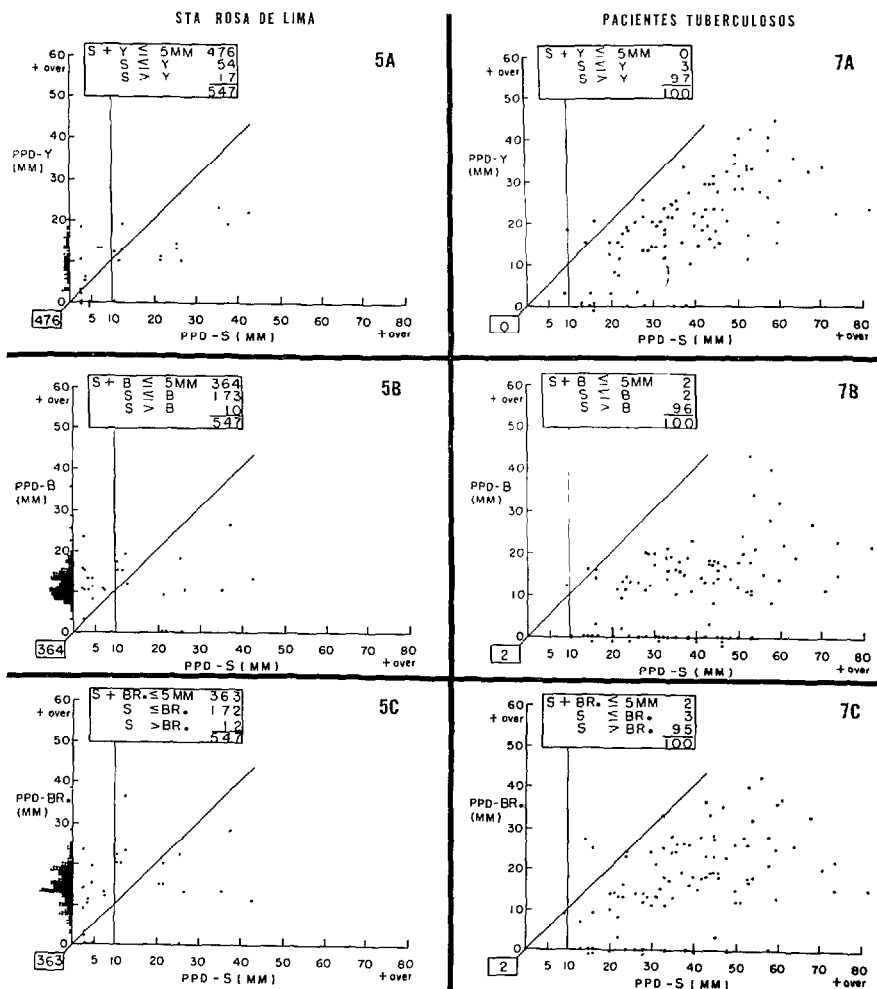


En los tres últimos años, acudieron a la División de Tuberculosis del Hospital Jefferson Davis, 7 niños que padecían linfadenitis cervical causada por escotocromógenos. La prueba tuberculínica hecha con 0,0001 mg. de PPD-S acusó reacción dudosa (eritema o edema sin induración palpable)

en 4 casos, y reacción positiva con induración de 13 a 19 mm., en los otros 3. Sin embargo, todos los casos acusaron reacción más intensa al antígeno escotocromógeno que al PPD-S (25). La reacción cutánea al PPD-S fue interpretada como una reacción cruzada a una infección escotocromógena, porque los

FIGURA 5 — Correlación de tamaño de la reacción a la tuberculina con el de la reacción al PPD-Y, PPD-B, y PPD-Br en los alumnos de la escuela elemental Santa Rosa de Lima.

FIGURA 7 — Correlación del tamaño de la reacción a la tuberculina con el de la reacción al PPD-Y, PPD-B, y PPD-Br en pacientes tuberculosos.



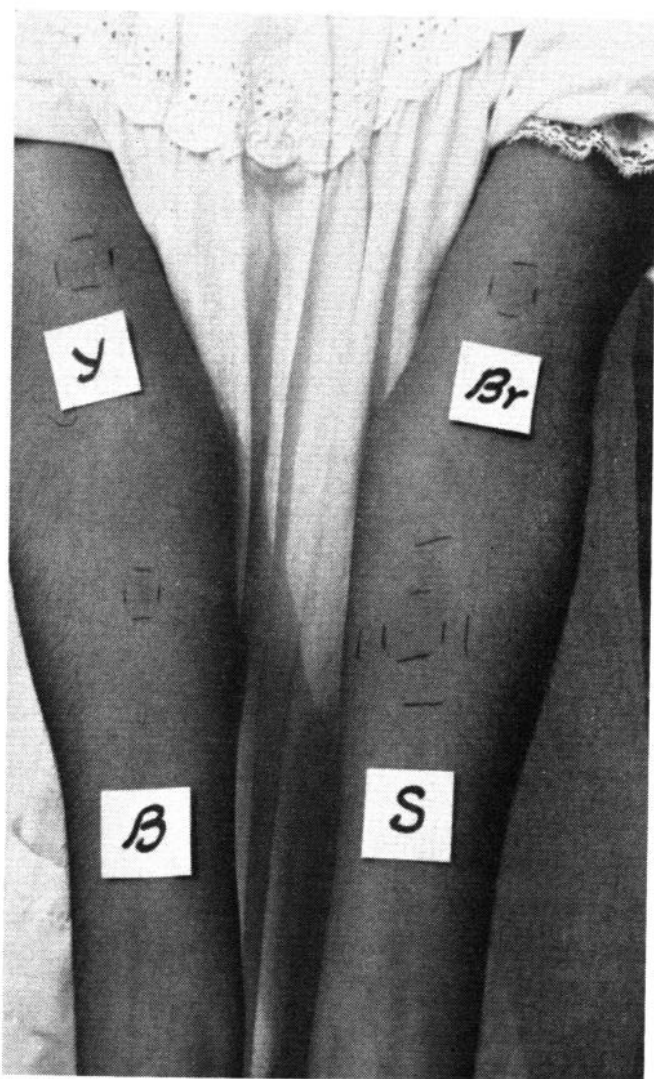
escotocromógenos eran los únicos microorganismos cultivados de los ganglios afectados y no había evidencia de tuberculosis en esos niños.

En 1961, David y Comstock (26) revisaron 6 casos de adenitis cervical debida a micobacterias cromógenas (colonias de color amarillo o anaranjado). Las pruebas intradérmicas con 0,0001 mg. de PPD-S acusaron reacción de menor intensidad de 3 a 8 mm. en 4 casos y ninguna reacción en 2 casos, mientras que la reacción cutánea al antígeno escotocromógeno fue más intensa.

En 1959, Chapman y Guy (27) dieron cuenta de su estudio de 6 casos de linfadenitis cervical en niños. Cinco de ellos se debieron, según el informe, a fotocromógenos, y uno a escotocromógenos. Tres niños dieron reacción negativa a 1:1000 OT, y positiva a 1:100 OT; el cuarto niño tuvo una reacción débil, con induración de 5 a 6 mm. a 1:10.000 OT; y los 2 restantes, tuvieron reacción tuberculínica "positiva", cuyo tamaño no se indica.

En 1959, Edwards y sus colaboradores (16) estudiaron las reacciones cutáneas al

FIGURA 6 — Pruebas cutáneas diferenciales con múltiples antígenos PPD.



PPD-B y al PPD-S en personas que sufrían enfermedades causadas por micobacterias Battey, en el Hospital Battey, de Rome, Georgia, Estados Unidos; la mayoría de ellos tuvieron reacciones poco intensas a la tuberculina estándar, pero las tuvieron más intensas al antígeno homólogo PPD-B.

Ciertas especies de micobacterias están relacionadas en tal grado con *M. tuberculosis* en cuanto a su estructura antigénica que a veces no se las puede distinguir mediante pruebas cutáneas diferenciales. Valiéndose de antígenos OT obtenidos separadamente de *M. tuberculosis* y *M. balnei*, Shaefer (28) comunicó en 1962 los resultados de reacciones cutáneas de 56 casos de infección debida a *M. balnei*: 48 de ellos dieron positivo y el tamaño de las reacciones a los dos antígenos era tan similar que el autor encontró que la reacción cutánea servía de poco para

diferenciar la infección por *M. balnei* de la infección tuberculosa. Este trabajo confirma las anteriores observaciones de Edwards y sus colaboradores (14), quienes señalaron que el antígeno de *M. balnei* daba reacciones de tamaño muy semejante a las provocadas por la tuberculina RT.

La reacción tuberculínica específica

La sensibilidad tuberculínica cutánea específica es causada por infección por *M. tuberculosis*, y, por lo general, es positiva en alto grado. El tamaño de la reacción tuberculínica cutánea tiene gran significación cuando se emplea una dosis estándar de tuberculina. A raíz de amplios estudios efectuados en poblaciones humanas, Edwards y sus colaboradores (14) consideran que una reacción de 12 mm. ó más, a 0,0001 mg. de PPD-S es una respuesta específica a la infección con *M. tuberculosis*. De igual modo, estudios hechos en países muy distantes entre sí, revelan que muy pocos pacientes tuberculosos tienen reacciones tuberculínicas pequeñas (20), observación que es válida respecto de personas que tienen tuberculosis activa o curada, o han estado en contacto directo con tuberculosos (5).

Después de detenido examen, el Comité de Pruebas Tuberculínicas Cutáneas, de la Sociedad Americana de Enfermedades del Tórax, ha elegido una línea divisoria arbitraria de 8 a 10 mm. de induración en respuesta a la dosis estándar de 5 UT (0,0001 mg.) de PPD-S. Se cree actualmente que esta línea divisoria tiene la ventaja de separar a la mayoría de las personas infectadas de tuberculosis, de aquellas que presentan reacciones tuberculínicas cruzadas debidas a infecciones por micobacterias distintas de los bacilos de la tuberculosis en mamíferos. Aunque se tiene entendido que pueden pasar inadvertidas unas pocas infecciones tuberculosas y que algunas infecciones no tuberculosas pueden ser tenidas por tales (29), la línea divisoria de 8-10 mm. parece ser factible y práctica. Estudios clínicos y epidemiológicos llevados a cabo en la zona de Houston demostraron que una infección tuberculosa

da generalmente reacciones de más de 12 mm. a 0,0001 mg. de PPD-S (23) cuando en la medición de la reacción tuberculínica cutánea se tienen en cuenta el edema palpable a la vez que la induración central.

Otra manera de identificar la reacción tuberculínica específica es hacer pruebas cutáneas diferenciales con múltiples antígenos micobacterianos. Se basa en que los cobayos inoculados con una cepa de micobacteria suelen presentar reacción más intensa al antígeno preparado con micobacterias de la misma cepa, que a una dosis equivalente de antígeno preparado con una cepa distinta (6-10). Cabe esperar, por analogía, que las personas infectadas por *M. tuberculosis* reaccionen de modo más intenso al antígeno preparado con *M. tuberculosis* (PPD-S) que a los antígenos preparados con otras cepas de micobacterias.

En pruebas cutáneas hechas en Rome, Georgia, a personas que sufrían la enfermedad debida a *M. tuberculosis*, Edwards y sus colaboradores (16) advirtieron una reacción más intensa al PPD-S que al PPD-B. En la División de Tuberculosis del Hospital Jefferson Davis, de Houston, 100 pacientes cuya enfermedad era debida a *M. tuberculosis*, fueron objeto de pruebas cutáneas con cuatro antígenos micobacterianos, en 1962-63. En los diagramas de dispersión 7A, 7B y 7C de la Fig. 7 se indica el tamaño de la reacción tuberculínica (PPD-S), en comparación con el de las reacciones correspondientes al PPD-Y, PPD-B y PPD-Br. Podrá notarse que, con pocas excepciones, las reacciones tuberculínicas muestran induraciones y edemas mayores que las reacciones cutáneas a antígenos de *M. kansasii* (PPD-Y), de los microorganismos grupo Battey (PPD-B) y de los escotocromógenos (PPD-Br). En la Fig. 6 se presenta un ejemplo típico. Este estudio confirma la observación anterior, hecha en 1960 en el mismo hospital, por la cual se estableció que los pacientes tuberculosos presentaban reacción más intensa al PPD-S que al PPD-B, al PPD-Y y al PPD-

Avium (23). Nosotros llamamos a esto cuadro de "predominio tuberculínico", el que, según nuestra experiencia, no sólo es característico de los pacientes con enfermedad activa causada por *M. tuberculosis*, sino también es el predominante en las reacciones cutáneas de personas que han estado en contacto con la enfermedad (23). Hemos visto aparecer este tipo de reacción entre contactos tuberculosos bajo observación, en quienes la reacción tuberculínica pasaba, de negativa, a ser positiva (23).

La prueba por punción múltiple, de Heaf

Si bien la prueba cutánea intradérmica es la más exacta de las pruebas tuberculínicas, tiene la desventaja de que su técnica presenta algunas dificultades. Los niños suelen asustarse a la vista de la aguja y su estado de alarma aumenta las dificultades de procedimiento y las posibilidades de error de la prueba. No es de extrañar que muchos pediatras limiten el empleo de la prueba intradérmica a los pocos casos que presentan problemas de diagnóstico. Las grandes clínicas pediátricas no están, por lo común, en condiciones de proporcionar el personal capacitado en número suficiente para que la prueba de Mantoux pueda ser un procedimiento corriente. Como consecuencia de ello, muchos niños con infección tuberculosa pueden pasar por centros de salud y clínicas sin que aquélla se descubra. De ahí que convenga hallar un método fácil e indoloro de hacer esta prueba como cosa de rutina en los exámenes.

La prueba de Heaf es una prueba tuberculínica por punción múltiple, empleada por primera vez en 1951 por Heaf, de Gales (30); la punción múltiple se hace mediante la "pistola Heaf", una lanceta de resorte que hace penetrar seis puntas hasta una profundidad previamente determinada, a través de una capa de solución tuberculínica concentrada, aplicada a la piel. En Estados Unidos se emplea la "pistola Sterneedle", una pistola Heaf modificada, con cartuchos

eliminables en la lanceta. La prueba resulta conveniente para los niños, porque no se ve aguja alguna y no causa dolor. La sencillez y la facilidad de su manejo la hacen conveniente para exámenes de pesquisa. Se usa como antígeno el PPD Weybridge en forma concentrada, con 2 mg. de PPD en 1 ml. Heaf (30) ha descrito los siguientes grados de reacción al antígeno (Fig. 8):

- Grado I—4-6 pápulas discretas
- Grado II—Fusión de las pápulas, formando un anillo edematoso
- Grado III—Induración más intensa, que forma una placa elevada
- Grado IV—Formación de ampollas o escaras

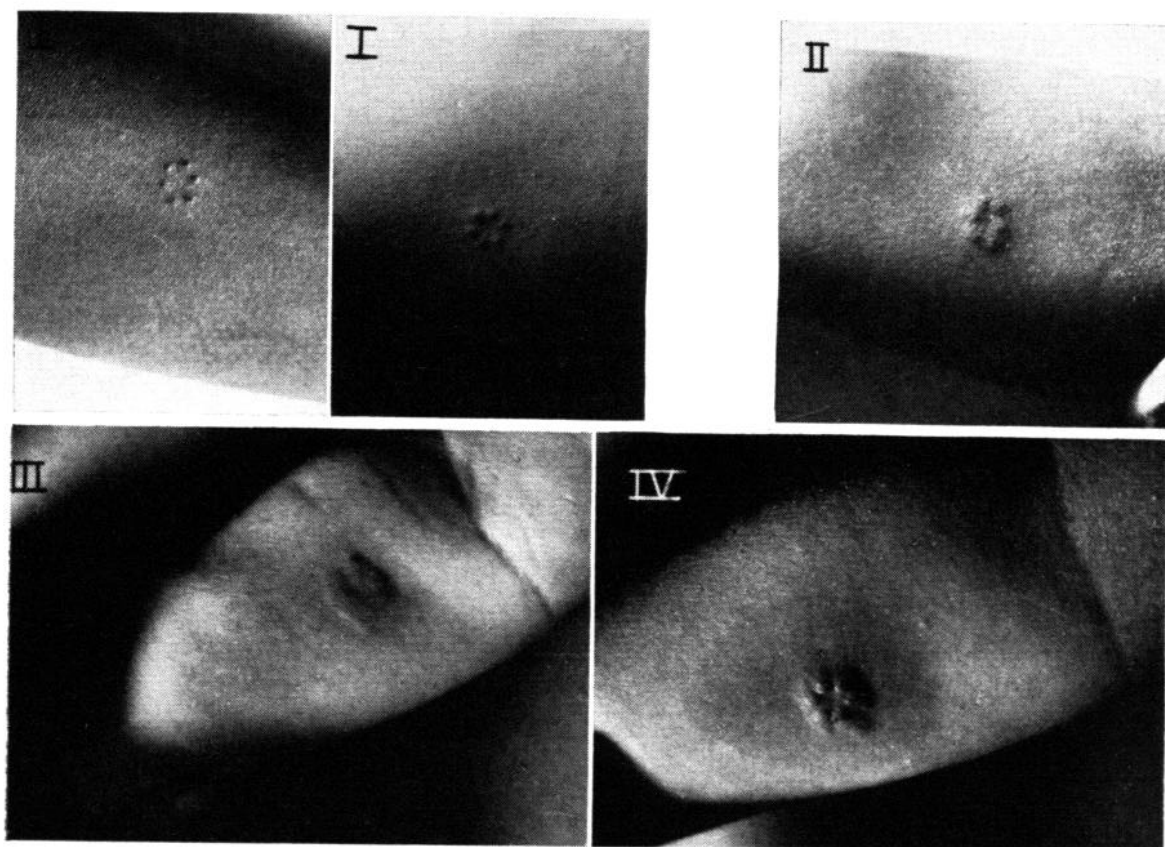
Varios investigadores han evaluado la sensibilidad de la prueba de Heaf, y la confianza que puede tenerse. Henshaw (31), al comparar la prueba de Heaf con la de Mantoux (10 UT de PPD) en 1.172 niños africanos de edad escolar, comunicó, en 1955, que había un coeficiente de correla-

ción bastante elevado entre ambos, y que la prueba de Heaf era algo más sensible.

La Asociación Británica Antituberculosa publicó, en 1958, un estudio hecho en colaboración por seis centros médicos en Inglaterra para comparar los resultados de la prueba de Heaf y de la de Mantoux (5 UT de PPD) en 1.195 contactos tuberculosos (32). Según él, no hubo diferencia alguna de importancia entre los resultados de una y otra en la observación hecha al tercer día, y se consideró que la prueba de Heaf se presta a la labor epidemiológica en gran escala.

Sin embargo, estudios posteriores llevados a cabo en distritos residenciales de Gran Bretaña mostraron que la prueba de Heaf era, en grado considerable, más sensible que la prueba de Mantoux, de 5 UT. El mayor número de reactores positivos a la de Heaf que a la de Mantoux, se atribuyó a la mayor proporción de personas de reacción positiva débil en la población sometida a la segunda prueba, a largo plazo (7 días) transcurrido hasta la lectura de la reacción a la prueba de

FIGURA 8 — Cuatro grados de reacción a la prueba de Heaf.



Heaf, y tal vez a otras pequeñas diferencias técnicas.

En Nueva York, Robins y sus colaboradores (33) comunicaron, en 1960, los resultados de un estudio comparativo de la prueba de Heaf y la de Mantoux entre 61.000 alumnos de Nueva York, al ingresar en la escuela secundaria. Se notó que la prueba de Heaf era más sensible que la de Mantoux, con una dilución de 1:1000 de OT ó 5 UT de PPD, y que una parte de la diferencia entre ambas podía anularse si no se tenían en cuenta las reacciones débiles de grado I Heaf.

Los autores y sus colaboradores llevaron a cabo una serie de pruebas por el método de Heaf, en la zona de Houston, y compararon sus resultados con los de la prueba de Mantoux, de 5 UT de PPD. En los párrafos que siguen se hace un resumen de la comparación de los resultados:

En el grupo de sujetos con intensa reacción tuberculínica, la prueba de Heaf y la de Mantoux de 5 UT dieron resultados muy parecidos. En 1960-61 se hicieron ambas pruebas a 410 contactos tuberculosos, en la Clínica de Tuberculosis. La observación a las 48 horas mostró que 238 eran positivos a la de Mantoux, 90% de las reacciones medían más de 10 mm., y 254 eran positivos a la prueba de Heaf, 90% de ellas de grado II ó mayor.

Se estableció que la prueba de Heaf es considerablemente más sensible que la de Mantoux con 5 UT de PPD, en niños de baja sensibilidad tuberculínica cutánea. Para hacer una evaluación de la prueba de Heaf en personas con reacciones tuberculínicas cruzadas, se adoptó dicha prueba en el programa de pruebas cutáneas múltiples de micobacterias que se puso en práctica en la escuela elemental Carver, en 1960 (24, 34). En esta escuela se hicieron simultáneamente a 681 alumnos cuatro pruebas cutáneas, la de Heaf y tres de Mantoux, con 5 UT (PPD-S, PPD-B y PPD-Y). A las 48 horas se hizo la lectura de todas las reacciones. A continuación se comparan las reacciones a la prueba de Heaf con las reacciones a la PPD-S

y la PPD-B:

Grado Heaf	Mantoux		Total
	Negativa	Positiva B>S S<B	
I	61	13 0	74
II, III, y IV	3	11 12	26

Entre los 74 niños cuya reacción fue de grado I Heaf, 61 fueron negativos a la prueba de Mantoux, y 13 acusaron reacción a la de Mantoux de tipo Battley predominante (B > S), probablemente de origen no tuberculoso. Esto concuerda con el estudio, de fecha reciente, comunicado por Griffith y colaboradores, en Cardiff (22), según el cual, la mayoría de los niños con reacción grado I Heaf acusaron reacción más intensa a los antígenos micobacterianos no clasificados, que al antígeno de la tuberculosis, y el grupo Battley-Avium de micobacterias fue considerado como causa probable de esa baja sensibilidad tuberculínica.

En vista de estos estudios, se recomienda que, al emplear la prueba de Heaf en los exámenes de pesquisa de tuberculosis, se dé prioridad a los que tienen reacción confluyente (anillo, placa y ampolla) en los exámenes de seguimiento, porque es más probable que entre ellos se encuentren infecciones tuberculosas típicas. La reacción de Heaf de pápulas aisladas (grado I) debe ser clasificada como dudosa hasta que la confirme la prueba de Mantoux estándar. Tal es, en particular, el caso en las zonas donde prevalece la sensibilidad tuberculínica cruzada. No se recomienda la prueba de Heaf con fines de diagnóstico, por su falta de control de la dosificación.

La prueba por púas, o "Tine test"

Esta prueba fue iniciada por Rosenthal en 1961, y, dado lo reciente de su empleo, de biera aplazarse por más tiempo su evaluación. Es también una prueba por punción

múltiple, pero se diferencia de la prueba de Heaf en que se usa la OT en vez del PPD. Se deja secar la OT en púas especialmente hechas en un disco de metal montado sobre un pequeño soporte de material plástico. En un plazo de 48 a 72 horas se lee la reacción. Es considerada reacción positiva una pápula endurecida de 2 mm. o más.

Rosenthal comparó en Chicago la prueba de púas con la prueba de Mantoux usando de 1 a 10 UT de OT e informó que, en los tres grupos de personas estudiadas, la prueba de púas resultó negativa entre un 7 y un 13% de las que fueron positivas a la Mantoux, y que se registraron reacciones positivas falsas entre un 0 y un 7,5% de las personas negativas a la prueba de Mantoux con 10 UT (35).

En Boston, Badger y sus colaboradores (36) hicieron un estudio comparativo de la prueba de púas y de la de Mantoux usando 5 UT de PPD-S. Considerando positiva mínima toda induración de 2 a 3 mm. a la prueba de púas, y positiva mínima toda induración de 6 mm. a la prueba de Mantoux, se observó una buena concordancia entre ambas. Según este estudio, el momento mejor para leer la reacción es al cumplirse las 72 horas de la prueba.

En Houston, el autor y sus colaboradores hicieron en 1962 un estudio preliminar de la prueba de púas, con el intento de evaluarla en una zona conocida por su elevada prevalencia de baja sensibilidad tuberculínica. El estudio se llevó a cabo tanto en el grupo de elevada reacción tuberculínica como en el de baja reacción tuberculínica.

El grupo de elevada reacción tuberculínica lo formaron 110 contactos de casos tuberculosos. Se hicieron al mismo tiempo a cada persona dos pruebas: una de púas en un antebrazo y la otra de Mantoux, con 5 UT de PPD-S, en el otro; se leyeron ambas reacciones 48 horas más tarde. De las 24 personas positivas a la de Mantoux, 23 lo fueron también a la prueba de púas. En la mayoría de los casos, ambas pruebas acusaron fuerte positividad. De las 86 personas negativas a la prueba de Mantoux, 84 fueron igual-

mente negativas a la otra. Por tanto, en un grupo de elevada reacción tuberculínica, la prueba de púas resiste bien la comparación con la de Mantoux de 5 UT.

El grupo de baja reacción tuberculínica, lo formaron 95 alumnos de sexto grado de la escuela elemental Santa Rosa de Lima. Cada uno fue objeto de cuatro pruebas simultáneas: la de púas y tres de Mantoux, de 5 UT (PPD-S, PPD-B y PPD-Br.), y las cuatro se leyeron a las 48 horas. Considerando una induración de 2 a 3 mm. como mínima para la reacción positiva a la prueba de púas y una induración de 6 mm. para la de Mantoux, el resultado fue el siguiente: sólo 4 niños fueron positivos al PPD-S y tres de ellos lo fueron también a la prueba de púas. De 91 niños reactores negativos al PPD-S, 21 también lo fueron a la prueba de púas pues acusaron pápulas discretas y endurecidas de 2 a 3 mm. Parece que la prueba de púas revelaría bastantes casos de sensibilidad tuberculínica de baja intensidad si se considerasen positivas las pápulas de 2 y 3 mm. La causa de esta baja sensibilidad es probable que sea la infección de tipo Battleyescocromógeno, porque más del 50% de los sujetos con reacción de 2 a 3 mm. eran reactores positivos al PPD-B y al PPD-Br., con más de 10 mm. de induración.

Por consiguiente, en tanto que la prueba de púas pudo ser comparada favorablemente con la de Mantoux en las pruebas hechas en Chicago y Boston, fue muchísimo más sensible que la de Mantoux de 5 UT en las pruebas de Houston, donde hay una relativa prevalencia de sensibilidad tuberculínica de menor intensidad. Este estudio preliminar acentúa la necesidad de una evaluación posterior de la prueba de púas, sobre todo en el grupo de baja sensibilidad tuberculínica.

La prueba del parche

La prueba del parche es muy inferior a la prueba de Mantoux, puesto que da reacciones falsas, tanto negativas como positivas (2). Las reacciones negativas falsas son más

comunes si el tiempo es caluroso, durante el cual la transpiración intensa hace que el parche se desprenda antes de tiempo. En la práctica del consultorio o de las visitas a domicilio, se puede recurrir a la reacción del parche cuando las demás pruebas no resultan prácticas, pero sin olvidar sus limitaciones.

Discusión

Sin duda, las reacciones tuberculínicas cruzadas plantean un problema en muchas zonas geográficas. Sin embargo, tales reacciones no invalidan la prueba tuberculínica. Por el contrario, su conocimiento y buena interpretación vienen a subrayar la utilidad de la prueba tuberculínica cutánea. Es probable que anteriormente muchas reacciones cruzadas se tomaran como signo de infección tuberculosa, con el consiguiente error de diagnóstico en la práctica médica y la indebida exageración del índice de infección tuberculosa en las encuestas epidemiológicas.

La tuberculina elaborada hoy está lejos de ser homogénea. Aun el PPD estándar contiene fracciones proteínicas comunes a varios tipos de micobacterias. Teniendo en cuenta los estudios mencionados, los autores trataron de representar gráficamente, en las Fig. 9 y 10, el actual concepto de la prueba de la tuberculina.

La Fig. 9 presenta la frecuencia relativa de reacciones tuberculínicas cruzadas (rayitas cruzadas) de distinto grado de sensibilidad tuberculínica, medido por el diámetro de la reacción cutánea a 5 UT de PPD-S. La reacción cruzada es muy común cuando el diámetro de la reacción cutánea es inferior a 6 mm. (parte blanca) y menos común cuando el diámetro de dicha reacción mide de 6 a 12 mm. (superficie gris). La reacción cruzada es menos común cuando el diámetro de la reacción tuberculínica es mayor de 12 mm. (parte negra).

La reacción tuberculínica específica está indicada por la parte negra de la Fig. 9. Al revés que la reacción cruzada, la específica es por lo general intensa, de un diámetro mayor de 12 mm. a 5 UT de PPD-S, aunque algunas de ellas pueden tener un diámetro menor.

La Fig. 9 representa también la frecuencia de la reacción tuberculínica cruzada en distintos lugares geográficos. Así, por ejemplo, un médico que ejerce en la zona A, donde hay gran prevalencia de reacciones cruzadas, puede suponer con cierta lógica que una reacción débil (de 6 a 12 mm.) a 5 UT no es de origen tuberculoso, mientras no sería prudente que un médico que ejerce en la zona B pensara lo mismo, dada la poca frecuencia de reacción cruzada en dicho lugar.

La Fig. 10 muestra el efecto de la infec-

FIGURA 9 — Frecuencia relativa de la reacción tuberculínica cruzada (rayitas cruzadas) y la reacción tuberculínica específica (negro) a diferentes niveles de sensibilidad tuberculínica, y la superposición de ambas. A) En una región de elevada prevalencia de reacciones cruzadas. B) En una región de baja prevalencia de reacciones cruzadas.

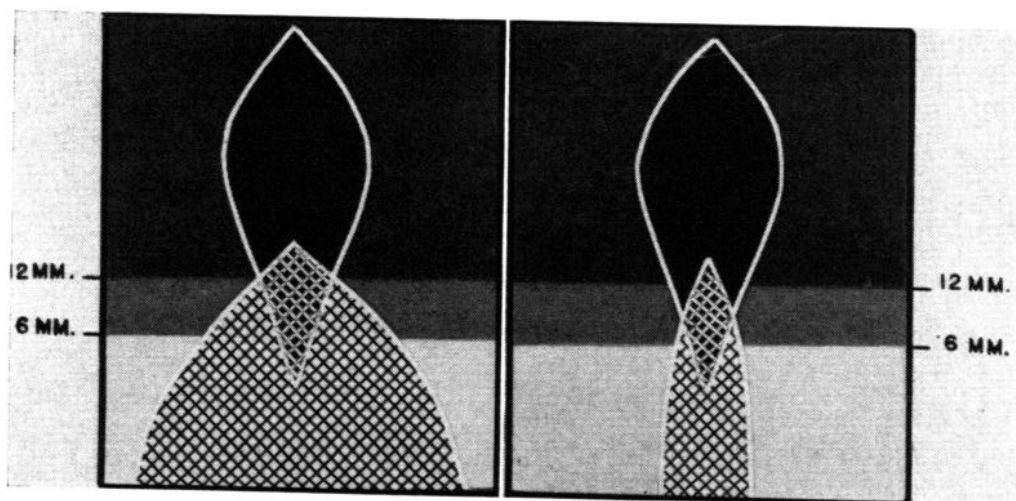
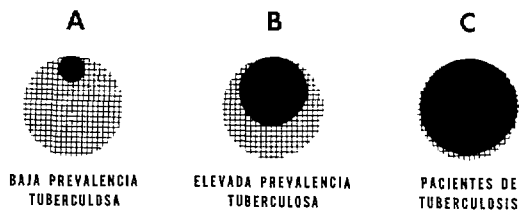


FIGURA 10 — Efecto de la infección tuberculosa (negro) sobre la perceptibilidad de la reacción cruzada (rayitas cruzadas).



ción tuberculosa sobre la perceptibilidad de la reacción tuberculínica cruzada. En una población de baja prevalencia tuberculosa (a), tal como la de las escuelas de primera enseñanza de Houston, las reacciones tuberculínicas cruzadas serían evidentes (24) y podría esperarse que en dicho grupo se hallasen muchas reacciones tuberculínicas cutáneas débiles. En cambio, en una población de elevada prevalencia tuberculosa (b), tales como contactos tuberculosos (23), se hallaría que la reacción tuberculínica cruzada débil está bastante encubierta por la fuerte reacción tuberculínica específica en la mayoría de los casos. Por tanto, la reacción tuberculínica débil debe ser poco frecuente en el grupo de contactos tuberculosos. Por último, en los pacientes de tuberculosis (c) la reacción cruzada débil rara vez se advierte, pues está casi eclipsada por la reacción tuberculínica específica, que, por lo común, es fuertemente positiva (5, 16, 23).

Interpretación de la prueba de la tuberculina hecha a niños sanos

El concepto más arriba expuesto sobre la reacción a la tuberculina tiene consecuencias prácticas. Cuando la prueba se aplica en exámenes o en encuestas epidemiológicas, conviene eliminar en lo posible las reacciones cruzadas, a fin de que la detección sea más eficaz y de evitar una indebida exageración de la tasa de morbilidad tuberculosa en los estudios epidemiológicos. Al usar 5 UT de PPD-S, una línea divisoria arbitraria de 8-10 mm. permitiría separar la mayoría de las reacciones cruzadas de las específicas,

salvo en centros de población donde haya gran prevalencia de reacciones cruzadas. En el último caso sería conveniente fijar una induración de 12 mm. o más como línea divisoria.

En la zona de Houston, donde la prevalencia de reacciones tuberculínicas cruzadas es elevada, es preferible una línea divisoria arbitraria de 12 mm. En las escuelas de primera enseñanza casi todos los niños que dieron una reacción tuberculínica mayor de 12 mm. tenían un cuadro de reacción de "predominio tuberculínico" al aplicarles otros antígenos micobacterianos. Este cuadro es compatible con la infección tuberculosa y es posible que se encuentre con frecuencia una fuente de infección. Sin embargo, en la zona de Houston las reacciones tuberculínicas de menor intensidad eran casi todas de tipo Battey predominante, y no se descubrió fuente alguna de tuberculosis.

Cuando se emplea la prueba tuberculínica por punción múltiple, la sensibilidad tuberculínica específica se caracteriza por lo general por una intensa reacción cutánea, en que la induración de las pápulas se junta y forma un anillo o placa.

En ciertos casos pueden incluso formarse ampollas. En cambio, hay que interpretar con cautela la reacción poco intensa de pápulas discretas. En los lugares donde hay prevalencia de reacciones tuberculínicas cruzadas, la mayoría de las pápulas discretas tal vez sean indicio de infección por micobacterias distintas de los bacilos de la tuberculosis en mamíferos.

Prueba de la tuberculina como medio de diagnóstico clínico de niños

En la práctica clínica y de hospital, la prueba tuberculínica debe ser interpretada con mayores reservas, porque el médico trata con niños enfermos, que hay que considerar como individuos, y no con un grupo de niños donde predominan los sanos. Una reacción cutánea de 10 ó 12 mm. de induración a 0,0001 mg. de PPD debe considerarse

como indicio de infección tuberculosa mientras no se demuestre lo contrario. Las reacciones de menor intensidad no se pueden desdeñar como no tuberculosas, pues a veces el niño tuberculoso puede acusar una reacción de poca intensidad. En caso de duda deben hacerse más exámenes.

En primer término hay que eliminar toda posibilidad de error técnico, haciendo repetir la prueba, de preferencia por el propio médico, quien tendrá la seguridad de que el equipo y el antígeno son los apropiados, de que la prueba se hace en forma debida y de que la reacción se lee con cuidado. La prueba tuberculínica intradérmica es asunto delicado, sobre todo con niños, y requiere experiencia y habilidad. Las pruebas hechas por persona sin experiencia suelen dar resultados que inducen a error.

La observación de seguimiento para ver si hubo o no cambio de sensibilidad tuberculínica durante cierto tiempo, suele dar valioso elemento de juicio. Una reacción pequeña en la etapa incipiente de una infección tuberculosa puede convertirse en una reacción positiva intensa en el término de pocas semanas. Por otra parte, una reacción cruzada tiende por lo común a desaparecer al cabo de cierto tiempo (6) o a mostrarse fugaz.

La investigación de los contactos es muy útil. Un caso de tuberculosis activa en el medio del niño o el descubrimiento de reacciones tuberculínicas positivas en sus hermanitos son indicios presuntivos importantes.

Ha de recordarse que la prueba tuberculínica no es más que una de las muchas pruebas a que se puede recurrir para identificar el caso de tuberculosis. Cuando se sospecha que lo es, hay que buscar otros indicios de la enfermedad mediante el examen físico, la radiografía torácica, el examen de esputo, o del contenido gástrico por observación microscópica o por cultivo y otras formas de comprobación.

La quimioprofilaxis de la tuberculosis hace más imprescindible que nunca el acierto de interpretación de la reacción tubercu-

línica. Hoy hay consenso general sobre el tratamiento con isoniacida de los niños cuyo riesgo de adquirir la tuberculosis clínica ha aumentado, a fin de evitar la manifestación de la enfermedad (37-40). En tales casos, una reacción tuberculínica positiva suele ser la única prueba de infección tuberculosa. Si esta reacción resulta ser dudosa, pueden ser muy útiles las pruebas cutáneas con múltiples antígenos micobacterianos. Infortunadamente, hoy escasean los antígenos micobacterianos de PPD y tal vez no se disponga de ellos para uso general durante algún tiempo. Para los niños pequeños, en especial los lactantes, en quienes hay peligro de que se produzca tuberculosis, sería aconsejable comenzar la quimioprofilaxis con isoniacida mientras se buscan otros indicios de infección o enfermedad tuberculosa.

Resumen

1) La prueba tuberculínica es el medio más eficaz de descubrir casos de tuberculosis y por lo tanto es esencial para un diagnóstico temprano y para prevenir las graves consecuencias de esta enfermedad.

2) Estudios recientes sobre infecciones micobacterianas han contribuido a una mejor comprensión de la reacción tuberculínica. El tamaño de la reacción tuberculínica cutánea tiene gran significación cuando se emplea una dosis estándar de 0,0001 mg. de PPD. Una reacción grande suele indicar una infección tuberculosa, en tanto que una reacción pequeña puede tener o no, origen tuberculoso.

3) La reacción tuberculínica específica causada por el bacilo de la tuberculosis es, por lo general, fuertemente positiva. En el estudio diferencial de las reacciones, la tuberculina estándar (PPD-S) da habitualmente una reacción más intensa que los otros antígenos de micobacterias.

4) Pueden encontrarse reacciones tuberculínicas cruzadas con una variedad de micobacterias no tuberculosas. En estas condiciones la reacción positiva suele ser débil.

En las pruebas diferenciales los antígenos de micobacterias homólogas suelen dar reacciones más intensas que la tuberculina estándar.

5) Cuando sólo se usa la tuberculina estándar PPD-S no siempre es posible distinguir por el tamaño de la reacción si ésta es específica o cruzada. En general, mientras más intensa es la reacción, mayor será la posibilidad de que se trate de una reacción específica tuberculosa.

6) Las pruebas por punción múltiple son útiles en los exámenes de rutina. Sin embargo, por falta de control de la dosis no son

recomendables con fines de diagnóstico. En las regiones donde hay una baja sensibilidad en la población, el grado I (pápulas discretas) debe ser clasificado como dudoso en lugar de positivo, porque, muchas de estas reacciones son cruzadas de infecciones no tuberculosas.

7) La prueba del parche es muy inferior a la de Mantoux, pues puede dar falsas positivas y falsas negativas. Cuando no se pueden usar otros métodos, la prueba del parche se puede usar como preliminar, pendiente de confirmación por el método estándar intradérmico.

REFERENCIAS

- (1) Edwards, P. Q., y Edwards, L. B.: Story of the Tuberculin Test, From an Epidemiologic Viewpoint, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 81:10, 1960.
- (2) Asociación Nacional Antituberculosa de Estados Unidos: *Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis*, National Tuberculosis Association, Estados Unidos, 1961.
- (3) Magnusson, M., y Bentzon, M. W.: Preparation of Purified Tuberculin RT 23, *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 19:329, 1958.
- (4) Guld, J., et al: Standardization of a New Batch of Purified Tuberculin (PPD) Intended for International Use, *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 19:845, 1958.
- (5) Edwards, L. B., Edwards, P. Q., y Palmer, C. E.: Sources of Tuberculin Sensitivity in Human Populations, *Acta Tub. Scandinav.*, 47:77, 1959.
- (6) Edwards, L. B., et al: Epidemiologic Studies of Tuberculin Sensitivity. II. Response to Experimental Infection with Mycobacteria Isolated from Human Sources, *Am. Jour. Hyg.*, 71:218, 1960.
- (7) Edwards, L. B., et al: Sensitivity Profiles of Mycobacterial Infection, *Bull. Int. Union Against Tub.*, 32:384, 1962.
- (8) Magnusson, M.: Specificity of Mycobacterial Sensitins. I. Studies in Guinea Pigs with Purified "Tuberculin" Prepared from Mammalian and Avian Tubercle Bacilli, *Mycobacterium balnei*, and Other Acid-fast Bacilli, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 83:57, 1961.
- (9) Magnusson, M.; Engbaek, H. C., y Bentzon, M. W.: Specificity of Mycobacterial Sensitins, II. Studies in Guinea Pigs with Purified Sensitin Prepared from Unclassified Acid-fast Bacilli, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 83:69, 1961.
- (10) Magnusson, M.: Specificity of Sensitins. III. Further Studies in Guinea Pigs with Sensitin of Various Species of Mycobacterium and Nocardia, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 86:395, 1962.
- (11) Seibert, F. B., y Glen, J. T.: Tuberculin Purified Protein Derivative; Preparation and Analyses of a Large Quantity for Standard, *Am. Rev. Tub.*, 44:9, 1941.
- (12) Affronti, L. F.: Purified Protein Derivatives (PPD) and Other Antigens Prepared from Acid-fast Bacilli and Nocardia Asteroides, *Am. Rev. Tub.*, 79:284, 1959.
- (13) Abrahams, E. W., y Silverstone, H.: Epidemiological Evidence of the Presence of Non-tuberculous Sensitivity to Tuberculin in Queensland, *Tubercle*, 42:487, 1961.
- (14) Edwards, L. B., y Krohn, E. F.: Skin Sensitivity to Antigens Made from Various Acid-fast Bacteria, *Am. Jour. Hyg.*, 66:253, 1957.
- (15) Peck, W. M., et al: Urban-rural Variations in Tuberculin Sensitivity, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 84:669, 1961.
- (16) Edwards, L. B., y Palmer, C. E.: Epidemiologic Studies of Tuberculin Sensitivity. I. Preliminary Results with Purified Protein Derivatives Prepared from Atypical Acid-fast Organisms, *Am. Jour. Hyg.*, 68:213, 1958.
- (17) Nissen-Meyer, S.: Epidemiologic Studies of Tuberculin Sensitivity. III. Estimation of Prevalence of Mycobacterial Infection from Results of Skin Tests with Mycobacterial Antigens, *Am. Jour. Hyg.*, 72:169, 1960.

- (18) Nyboe, J.: The Efficacy of the Tuberculin Test; An Analysis Based on Results from 33 Countries, *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 22:5, 1960.
- (19) Palmer, C. E., et al: Experimental and Epidemiologic Basis for the Interpretation of Tuberculin Sensitivity, *Jour. Pediat.*, 55: 413, 1959.
- (20) Organización Mundial de la Salud, Oficina de Investigación sobre Tuberculosis: Further Studies of Geographic Variation in Naturally Acquired Tuberculin Sensitivity, *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 12:63, 1955.
- (21) Mellman, W. J., y Barnes, L. A.: Unclassified Mycobacteria, a Cause of Nonspecific Tuberculin Reactions? *Am. Jour. Dis. Child.*, 104:21, 1962.
- (22) Griffith, A. H.; Marks, J., y Richards, M.: Low-grade Sensitivity to Tuberculin in School Children, *Tubercle*, 44:135, 1963.
- (23) Hsu, K. H. K.; Jenkins, D. E., y Soriano, L. R.: The Tuberculin Reaction Associated with Tuberculous Infection, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 87:493, 1963.
- (24) Hsu, K. H. K., y Jenkins, D. E.: The Significance of Low-grade Tuberculin Sensitivity, *Canad. Jour. Pub. Hlth.*, 53:313, 1962.
- (25) Greenberg, S. D., et al: Scotochromogen Mycobacterial Disease in Man. *Texas State Jour. Med.*, 59:949, 1963.
- (26) Davis, S., y Comstock, G. W.: Mycobacterial Cervical Adenitis in Children, *Jour. Ped.*, 58:771, 1961.
- (27) Chapman, J. S., y Guy, L. R.: Scofula Caused by Atypical Mycobacteria, *Pediatrics*, 23:323, 1959.
- (28) Schaeffer, W. B.; Blatman, S., y Bravo, L.: Tuberculin Sensitivity in Children Infected with *Mycobacterium Balnei*, *Pediatrics*, 29:404, 1962.
- (29) Sociedad Americana de Enfermedades del Tórax, Comité de Diagnóstico Mediante Pruebas Cutáneas: Tuberculin Skin-testing Techniques: Current Status, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 87:607, 1963.
- (30) Heaf, F.: The Multiple-puncture Tuberculin Test, *Lancet*, 2:151, 1951.
- (31) Henshaw, J. G.: Heaf First-degree Reactions in Africa. *West African Med. Jour.*, 4:175, 1955.
- (32) Asociación Británica Antituberculosa: A Single Tuberculin Test for Epidemiological Use: A Comparison of the Mantoux and Heaf Tests, *Tubercle* 40:317, 1959.
- (33) Robins, A. B., y Daly, J. N.: Evaluation of the Heaf Tuberculin Test, *New Engl. Jour. Med.*, 262:1008, 1960.
- (34) Hsu, K. H. K.: Nontuberculosis Mycobacterial Infections in Children, *Jour. Ped.*, 60:705, 1962.
- (35) Rosenthal, S. R.: The Disk-tine Tuberculin Test (Dried Tuberculin-disposable Unit), *Jour. Am. Med. Assn.* 177:452, 1961.
- (36) Badger, T. L.; Breitweiser, E. R., y Muench, H.: Tuberculin Tine Test, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 87:338, 1963.
- (37) Hsu, K. H. K.: Should Primary Tuberculosis in Children Continue to Be Neglected? *Jour. Ped.*, 48:501, 1956.
- (38) Hsu, K. H. K.: Isoniazid Therapy of Primary TB in Children, *Dis. Chest*, 37: 499, 1960.
- (39) Sociedad "Trudeau" Americana: Treatment of Tuberculosis in Children. A Statement by the Committee on Tuberculosis and Respiratory Diseases in Children, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 81:446, 1960.
- (40) Academia Americana de Pediatría, Comité de la Sección de Enfermedades del Tórax: Isoniazid Treatment for Tuberculin Reactors, *Pediatrics*, 27:179, 1961.